

CheKine™ 谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测试剂盒（微量法）

货号: KTB3041

规格: 48 T/48 S 96 T/96 S

批号: 见产品标签

	适用样本：动植物组织、细胞、细菌、血清（浆）
	保质期：4℃，避光保存 12 个月

01 背景与原理

谷氨酸（Glu）广泛存在于动物、植物、微生物和培养细胞中，是生物体内主要氨基来源之一。谷氨酸脱氢酶（Glutamate dehydrogenase, GDH）（EC 1.4.1.2）可以催化谷氨酸可逆氧化脱氨为 α -酮戊二酸，是碳代谢和氮代谢过程中的一个关键酶，其和谷氨酸合成酶（GOGAT）共同参与谷氨酸的合成，在氨同化和转化成有机氮化合物的代谢中起重要作用。

本试剂盒检测原理是 GDH 催化 NH_4^+ 、NADH 和 α -酮戊二酸，生成谷氨酸和 NAD^+ ，引起 340 nm 吸光度下降，通过测定 340 nm 吸光度的下降速率，计算 GDH 活性。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Reagent I	60 mL	120 mL	4℃
Reagent II	12 mL	24 mL	4℃
Reagent III	Powder×1 vial	Powder×2 vials	4℃，避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10% 的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 340 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	UV 板
试剂	PBS	样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、超声破碎仪、制冰机、低温离心机、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 对于组织样本及细胞样本等，可通过测定蛋白浓度来进行样本间结果均一化。推荐使用亚科因货号：KTD3001 的蛋白质定量试剂盒（BCA 法）。
- 本试剂盒兼容分光光度计检测，请按照分光光度计检测要求按比例调节检测试剂配制量。如有疑问，可咨询本司技术人员（400-6800-830）。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Reagent I	即用型	4℃保存

05-2 样本制备

注意：推荐使用新鲜样本。测定过程中，样本和所有试剂在冰上放置，以免变性和失活。

- 动植物组织：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Reagent I，冰浴匀浆，8000 g，4℃离心 10 min，取上清置冰上待测。
- 细胞或细菌：收集 5×10⁶ 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞或细菌，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Reagent I 进行冰浴超声破碎。超声波破碎 5 min（功率 20%或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），4℃，8000 g 离心 10 min，取上清置于冰上待测。
- 血清（浆）：直接测定。

05-3 实验步骤

注意：因通过单位时间内吸光值的变化计算酶活，不推荐同时测多个样本。

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 340 nm。
2. Working Solution：临用前配制，每瓶 Reagent III 中加入 11.7 mL Reagent II，充分混匀待用，现配现用；4℃避光保存。临用前于 37℃（哺乳动物）或 25℃（其它物种）孵育 30 min。

3. 检测体系配制：在 96 孔 UV 板中按照如下方式操作

试剂	测定孔 (μL)
样本	10
Working Solution	190

4. 吸光度检测：立即混匀测定 340 nm 处吸光值。记录第 20 s 和 5 min 20 s 时吸光值，分别记录为 A₁ 和 A₂。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_1 - A_2$ 。

2. 样本 GDH 活性计算

● 按样本质量计算

单位的定义：每 g 组织每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/g)} = [\Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \div V_{\text{Reagent I}} \times V_{\text{样本}}) \div T = 1286 \times \Delta A_{\text{测}} \div W$$

● 按细胞或细菌数量计算

单位的定义：每 1 万个细胞（菌）每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/10}^4\text{)} = [\Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样本}} \div V_{\text{Reagent I}} \times N) \div T = 1286 \times \Delta A_{\text{测}} \div N$$

● 按液体体积计算

单位的定义：每毫升血清（浆）每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/mL)} = [\Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div V_{\text{样本}} \div T = 1286 \times \Delta A_{\text{测}}$$

● 按蛋白浓度计算

单位的定义：每 mg 组织蛋白每分钟消耗 1 nmol 的 NADH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{GDH (U/mg prot)} = [\Delta A_{\text{测}} \times V_{\text{反应}} \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V_{\text{样本}} \times \text{Cpr}) \div T = 1286 \times \Delta A_{\text{测}} \div \text{Cpr}$$

$V_{\text{反应}}$ ：反应体系总体积，0.2 mL = 2×10^{-4} L； $V_{\text{Reagent I}}$ ：加入 Reagent I 体积，1 mL； $V_{\text{样本}}$ ：加入样本体积，0.01 mL； ϵ ：NADH 摩尔消光系数， 6.22×10^3 L/mol/cm； d ：96 孔 UV 板直径，0.5 cm；Cpr：蛋白浓度 (mg/mL)； T ：反应时间，5 min； W ：样本质量，g； N ：细胞或细菌数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ， $N=500$ ）； 10^9 ：单位换算系数，1 mol = 10^9 nmol。

07 结果展示

示例-1：取 0.1 g 小鼠肝脏，按照测定步骤操作，用 96 孔 UV 板进行检测。测得 $\Delta A_{\text{测}} = A_1 - A_2 = 0.425 - 0.249 = 0.176$ 。按样本质量计算得：GDH (U/g) = $1286 \times \Delta A_{\text{测}} \div W = 2263.36$ U/g。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{\text{测}}$ 过高或者过低怎么办？

如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 小于 0.005 可适当加大样本量。如果 $\Delta A_{\text{测}}$ 大于 0.5，样本可用 Reagent I 进一步稀释，或减少提取用样本量，再重新进行测定。

09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB3040	CheKine™ 谷氨酸合成酶（GOGAT）活性检测试剂盒（微量法）
KTB3050	CheKine™ 水土中亚硝酸盐含量检测试剂盒（微量法）

CheKine™谷氨酸脱氢酶（GDH）活性检测流程示意图

(Abbkin 货号：KTB3041)

